

OP1 DATE 08/12/98 APPLN. ID 77730/98
AOPJ DATE 28/01/99 PCT NUMBER PCT/FR98/00966



NR987730

DER.

3 (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁶ : A61K 39/09, 39/385	AI	(11) Numéro de publication internationale: WO 98/51339 (43) Date de publication internationale: 19 novembre 1998 (19.11.98)
<p>(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR98/00966</p> <p>(22) Date de dépôt international: 14 mai 1998 (14.05.98)</p> <p>(30) Données relatives à la priorité: 97/06219 14 mai 1997 (14.05.97) FR</p> <p>(71) Dépositaire (pour tous les Etats désignés sauf US): PASTEUR MERIEUX SERUMS & VACCINS (FR/FR); 58, avenue Leclerc, Boite postale 2946, F-69348-Lyon-Gedex-69 (FR); F-69007 LYON</p> <p>(72) Inventeur: et</p> <p>(75) Inventeur/Déposant (US seulement): LEROY, Odile (FR/FR); 13, rue des Quatre Vents, F-92360 Garches (FR).</p> <p>(74) Mandataire: AYROLES, Marie-Pauline; Pastors-Mérieux Sérums & Vaccins, Direction Propriété Industrielle, 58, avenue Leclerc, Boite postale 7046, F-69348 Lyon Cedex 07 (FR)</p>	<p>(81) Etats désignés: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GR, GE, GH, GM, GW, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, brevets ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), brevets européens (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevets européens (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LI, LU, MC, NL, PT, SE), brevets OAPI (BF, BI, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p>Publié Avec rapport de recherche internationale. Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont requises.</p>	
<p>(54) Titre: MULTIVALENT VACCINE COMPOSITION WITH MIXED CARRIER</p> <p>(54) Titre: COMPOSITION VACCINALE MULTIVALENTE A PORTEUR MIXTE</p> <p>(57) Abrégé</p> <p>The invention concerns a pharmaceutical composition for treating or preventing a certain number of infections caused by pathogenic agents such as bacteria, comprising as immunogen, one or several polysaccharides derived from one or several pathogenic agents. The polysaccharides are in the form of conjugates, coupled with a carrier protein. The composition contains at least two types of conjugates, each being at least characterized by a different protein carrier.</p> <p>(57) Abrégé</p> <p>La présente invention a pour objet une composition pharmaceutique destinée au traitement ou à la prévention d'un certain nombre d'infections dues à des agents pathogènes tels que les bactéries, qui comprend à titre d'agent immunogène, un ou des polysaccharides dérivés d'un ou de plusieurs agents pathogènes. Les polysaccharides sont sous forme de conjugués, couplés à une protéine porteuse. La composition contient au moins deux types de conjugués, chacun étant au moins caractérisé par une protéine porteuse différente.</p>		



Multivalent vaccine composition with mixed carrier

The subject of the present invention is a pharmaceutical composition intended for the treatment or prevention of a number of infections caused by pathogenic agents such as bacteria, which comprises, as immunogenic agent, polysaccharides derived from one or more pathogenic agent.

Bacteria as well as fungi such as yeasts incorporate polysaccharides into their surface structure. Thus, the great majority of bacteria are coated with an exudate of a polysaccharide nature which is attached to the bacterium more or less firmly but which is strictly speaking not an envelope. This exudate is called glycocalyx or capsule. Moreover, the outer membrane of Gram-negative bacteria, consists, inter alia, of lipopolysaccharide (LPS). Finally, polysaccharides are also found in the wall of fungi. These polysaccharides are in fact surface antigens which induce an immune response in an infected mammal.

Such polysaccharides are produced on the basis of units in which the constituents and the bonds are defined and which are characteristic of the bacterial or fungal species considered. These repeating units contain the epitopes, that is to say the structures which determine antigenicity.

The polysaccharides of pathogenic micro-organisms are reputed to be good vaccine agents. As they are, they are effective in adults and children over two years. On the other hand, in breast-feeding infants, some are only slightly or not immunogenic and do not induce any immune response. It is possible to overcome this problem by coupling, via covalent bonding, the polysaccharides to a so-called carrier protein such as diphtheria or tetanus toxoid so as to obtain a polysaccharide-carrier protein conjugate.

The same vaccine composition may contain several conjugates. Indeed, the trend is to combine several vaccinal agents intended to prevent or to treat



- infections induced by pathogenic agents from various species, this being, inter alia, in order to limit the number of administrations during the life of an individual. Furthermore, within the same species, there
- 5 may be several serogroups/serotypes which are widely represented regionally or world-wide. It is this recalled that a serogroup/serotype is characterized, inter alia, by the nature of the capsule polysaccharide and that polysaccharides of various serogroups
- 10 generally do not exhibit immunological cross-reactivity. In this case, it may therefore be necessary to combine the polysaccharides obtained from various serogroups in order to effectively combat an infection caused by one and the same species.
- 15 Thus, this is for example the case when it is sought to vaccinate against *Streptococcus pneumoniae* infections. Pneumococcal infections are a real public health problem especially since they are found in the severe forms of pneumonia, septicaemia and meningitis.
- 20 In industrialized countries, they affect each year 30 to 100 per 100,000 children under three years. The mortality rate in cases of bacteraemia and meningitis is 15 to 30% whereas 5% of children die of pneumonia.
- A study carried out in Finland from 1985 to
- 25 1989 shows that 90% of invasive infections are caused by 8 groups of serogroups/serotypes. Serogroups/serotypes 14, 6 and 19 are responsible for 54% of cases, serotype 14 being predominant in children under two years. Other pneumococci frequently isolated belong
- 30 to serogroups 7, 18 and 23; yet others, more rare, belong to serogroups/serotypes 9 and 4. A similar distribution has been demonstrated in other industrialized countries, in particular in the United States.
- 35 Moreover, *Streptococcus pneumoniae* is responsible for a number of otitis infections which are more benign but very common. The number of children that have had an otitis infection before the age of six is evaluated at about 75% and the number of otitis



infections caused by pneumococcus at 30 to 50%. In developed countries, otitis infections caused by pneumococcus are due to serogroup 19 in 25% of cases, followed by serogroups/serotypes 23 (13%), 6 and 14 (12%), 9 and 18 (4%) and 4 and 1 (2%).

A pneumococcal vaccine containing the polysaccharides of 23 serotypes is already commercially available. This vaccine makes it possible to effectively combat invasive infections in adults and has a transient action in children over seven months.

The capsular polysaccharides of pneumococci are T-independent antigens, i.e. they can induce antibodies, preferably of the IgM type, without the help of T cells and are not capable of promoting a booster response of the IgG type. When they are coupled to a carrier protein, these polysaccharides then prove capable of inducing a T-dependent response, most particularly in neonates and should provide long-term protection.

Clinical studies have been carried out in Finland and Israel with pneumococcal vaccines having four valencies containing conjugates 6B, 9V, 18C and 23F in which the polysaccharide was coupled either to Dt or to Tt. The doses were 1, 3 or 10 µg of polysaccharide per valency. Each of these formulations was administered simultaneously with an anti-Haemophilus vaccine (polyribitolphosphate coupled to Tt; Act-HIB marketed by Pasteur Mérieux Connaught) and an anti-diphtheria, tetanus, whooping cough vaccine (for Finland, D.T.Coq marketed by KTL). Furthermore, these three administrations were carried out accompanied or not by simultaneous administration of an oral or injectable polio vaccine. They were repeated twice at a few weeks interval, and then once, one year after the first immunization.

The results of these studies as reported in the table below have made it possible to demonstrate an effect of negative interference of the diphtheria and



tetanus toxoid load on the induction of anti-HiB antibodies, after the last immunization.

Finnish study	Anti-HiB antibody in µg/ml
Placebo	11.00
Tetavalent pneumo	
Tt: 1 µg	10.1
3 µg	7.18
10 µg	4.11
Dt: 1 µg	11.5
3 µg	12.5
10 µg	7.18

Israeli study	Anti-HiB antibody in µg/ml
Placebo	6.62
Tetavalent pneumo	
Tt: 3 µg	2.81
Dt: 3 µg	4.62

A similar interference effect was observed during a clinical study in Iceland in which breast-feeding infants received Pro HIBit (PRP coupled to Dt; Connaught) in place of Act-HiB.

More generally, it is predicted that, regardless of the vaccine based on conjugated polysaccharides, a maximum load of Dt and of Tt or of any other protein exists in the conjugated vaccine or in the association or combination of vaccine administered above which the immune response against polysaccharides conjugated with this protein may be reduced. In order to overcome the problem which the phenomenon of negative interference constitutes in multivalent vaccines composed of polysaccharide conjugates, the present application proposes to use not one but at least two carrier proteins so that the maximum load of each of the carrier proteins is not reached.



Accordingly, the subject of the invention is a composition comprising "n" conjugates C1 to Cn, each conjugate being composed (i) of a polysaccharide, in particular a polysaccharide derived from a *Streptococcus pneumoniae* serotype/serogroup S1 to Sn respectively, and (ii) of a carrier protein P1 to Pn respectively, "n" being a number equal to or greater than 2; in which composition the polysaccharides S1 to Sn are identical or different and in which the carrier proteins P1 to Pn are selected independently from a group consisting of "m" carrier proteins A1 to Am, "m" being a number equal to or greater than 2, provided that at least one of the carrier proteins P1 to Pn is different from the others.

According to another aspect, the subject of the invention is also a composition which comprises "n" conjugates C1 to Cn, each conjugate being composed (i) of a polysaccharide S1 to Sn respectively and (ii) a carrier protein P1 to Pn respectively, "n" being a number equal to or greater than 2; in which composition the polysaccharides S1 to Sn are identical or different and in which the carrier proteins P1 to Pn are selected independently from a group consisting of diphtheria (Dt) and tetanus (Tt) toxoids, provided that at least one of the carrier proteins P1 to Pn is different from the others; and which is characterized in that the quantity of Dt and Tt is respectively less than or equal to 200 and 50 µg/dose. In other words, a composition according to the invention comprises one or more polysaccharide conjugates in which the polysaccharide is coupled to the diphtheria toxoid (Dt) and one or more polysaccharide conjugates in which the polysaccharide is coupled to the tetanus toxoid (Tt) and is characterized in that the quantity of Dt and Tt is respectively less than or equal to 200 and 50 µg/dose.

By way of illustration, the following compositions are envisaged:



(i) A composition containing at least three conjugates C1, C2, C3, ... Cn, of formulas S1-P1, S2-P2, S3-P3, Sn-Pn, with: S1 to Sn identical to each other and P1 to Pn all different from each other;

5 (ii) A composition containing at least three conjugates C1, C2, C3, ... Cn, of formulas S1-P1, S2-P2, S3-P3, Sn-Pn, with: S1 to Sn all different from each other, P1 and P2 identical to each other, P3 to Pn identical to each other and P1 and P2 different
10 from P3 to Pn, and

(iii) A composition containing at least three conjugates C1, C2, C3, ... Cn, of formulas S1-P1, S2-P2, S3-P3, Sn-Pn, with: S1 and S2 identical to each other, S3 to Sn identical to each other, S1 and S2
15 different from S3 to Sn, P1 and P3 identical to each other, P2 to Pn, excluding P3, identical to each other and P1 and P3 different from P2 to Pn (-P3).

Thus, for the purposes of the present invention, the conjugates C1 to Cn, which are
20 necessarily all different from each other, may be so in pairs either through their polysaccharide, or through their carrier protein or through their polysaccharide and their carrier protein. According to a specific embodiment, the polysaccharides used are all different
25 from each other.

The number "n" of conjugates present in a composition according to the invention is equal to or greater than 2, and may in particular be equal to or greater than 3, 4, 6, 8, 10, 11, 12, 15 or 20. In
30 general, this number "n" may be determined by persons skilled in the art as a function of a number of criteria in particular linked to the very nature of the composition, to the objectives which this composition should make it possible to achieve and to the
35 population for whom this composition is intended. For example, in the case of a composition intended for treating or preventing pneumococcal infections in breast-feeding infants, it is considered that such a composition, in order to offer a good level of



protection and world-wide protection, should contain at least 8, preferably at least 10, most preferably at least 11 valencies which may be represented by at least 11 conjugates or more.

5 "Polysaccharide" is understood to mean a polymer consisting of a plurality of saccharide repeating units, especially of more than four repeating units, regardless of the length of the saccharide chain and regardless of the average molecular weight of the
10 polysaccharide. This term covers in particular that of oligosaccharide.

"Conjugate" is understood to mean a compound in which a polysaccharide is covalently linked to a carrier protein.

15 Thus, as previously stated, a composition according to the invention should use at least two carrier proteins. These carrier proteins may be chosen from all those commonly used in the field of vaccines. They may be in particular the diphtheria toxoid (Dt),
20 the tetanus toxoid (Tt), the non-toxic mutant form CRM197 of the diphtheria toxin and the outer membrane protein type 1 (OMP1) of *Neisseria meningitidis* or any variant, analogue or fragment of the latter which has preserved the carrier capacity. The methods which make
25 it possible to obtain these proteins in purified form are well known to persons skilled in the art. The terms "protein" as used in the present application applies to any amino acid chain, regardless of the length of the chain. In particular, this term covers the notion of
30 peptide.

In general, the group of proteins A1 to Am from which the carrier proteins P1 to Pn are independently selected therefore represents all the proteins having a carrier effect. For their personal needs, persons
35 skilled in the art may agree that their choice would be limited to a defined number of proteins and, consequently, they can define the group which they will use to make their selection on the basis of a number "m" of components equal to or greater than 2 and at



most equal to "n", "n" being as defined above. In particular, persons skilled in the art can determine the minimum number of different carrier proteins which is necessary in order to avoid the phenomenon of interference. To do this, they will take into account the maximum load that should not be exceeded for each of the carrier proteins. "Maximum load" refers to the quantity of carrier protein above which a reduced immune response is observed against one or more polysaccharides compared with a corresponding monovalent composition (conjugate taken separately).

In particular, as regards the diphtheria toxoid and the tetanus toxoid, it is estimated that, advantageously, the quantity of these proteins present in a dose of a composition according to the invention should not exceed 200 and 50 μ g respectively, such a dose being envisaged for administration in a mammal, preferably a human. Preferably, the Dt load is less than or equal to 150, 120 or 100 μ g, most preferably 80 or 60 μ g. Preferably, the Tt load is less than or equal to 35 or 25 μ g, most preferably 20 or 10 μ g.

Thus, it may be accepted that for a composition using only two different carrier proteins, the selection of these proteins will be made from a group consisting of proteins A1 and A2. Preferably, A1 and A2 may be diphtheria toxoid (Dt) and tetanus toxoid (Tt) respectively or vice versa.

According to a specific embodiment, a composition using only two different carrier proteins is characterized by a balanced distribution of the number of polysaccharides conjugated with the first carrier protein and of the number of polysaccharides conjugated with the second carrier protein. For example, when "n" is an even number, "n"/2 carrier proteins P1 to Pn are A1 and "n"/2 carrier proteins P1 to Pn are A2 or when "n" is an odd number, ("n"+1)/2 carrier proteins P1 to Pn are A1 and ("n"-1)/2 carrier proteins P1 to Pn are A2.



A polysaccharide useful for the purposes of the present invention may be in particular a polysaccharide of bacterial or fungal origin. It may be in particular a polysaccharide from *Streptococcus* e.g. *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Salmonella* e.g. *Salmonella typhi*, *Escherichia*, *Shigella*, *Neisseria* e.g. *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus* e.g. *Haemophilus influenzae*, *Moraxella*, *Vibrio cholerae* or *Mycobacterium tuberculosis*.

10 In a composition according to the invention, the polysaccharides may be derived from different species or alternatively may all be derived from the same species, e.g. from the same bacterial species, possibly of different serogroups/serotypes. In order to
15 illustrate this last possibility, there may be mentioned a composition according to the invention intended to vaccinate against pneumococcal infections, which contains at least 8 valencies, preferably 10 or 11 valencies chosen from serotypes 1, 3, 4, 5, 6B, 7F,
20 9V, 14, 18C, 19F and 23F.

Thus, a composition constituting a pneumococcal vaccine advantageously comprises 10 or 11 valencies, e.g. represented by 10 or 11 conjugates in which the polysaccharides are all different from each other and
25 are derived (have as origin) serotypes/serogroups chosen from serotypes 1, 3, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F and 23F of *S. pneumoniae*. It may be in particular a composition which comprises 10 or 11 conjugates selected from:

- 30 - serotype 1 polysaccharide coupled to Tt or to Dt;
- serotype 3 polysaccharide coupled to Dt;
- serotype 4 polysaccharide coupled to Tt;
- serotype 5 polysaccharide coupled to Tt or to Dt;
- serotype 6B polysaccharide coupled to Dt;
35 - serotype 7F polysaccharide coupled to Tt or to Dt;
- serotype 9V polysaccharide coupled to Tt;
- serotype 14 polysaccharide coupled to Dt;
- serotype 18C polysaccharide coupled to Dt;
- serotype 19F polysaccharide coupled to Tt; and



- serotype 23F polysaccharide coupled to Tt.

Under another aspect, a composition constituting a pneumococcal vaccine may comprise 10 or 11 valencies represented by 12 to 22, especially 12 to 15 conjugates, in which the polysaccharides are derived from the serotypes chosen from serotypes 1, 3, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F and 23F, in which composition conjugates of the same valency differ from each other in the carrier protein. It may be in particular a composition which comprises:

- serotype 1 polysaccharide coupled to Tt;
- serotype 3 polysaccharide coupled to Dt;
- serotype 4 polysaccharide coupled to Tt;
- serotype 5 polysaccharide coupled to Tt;
- 15 - serotype 6B polysaccharide coupled to Dt;
- serotype 6B polysaccharide coupled to Tt;
- serotype 7F polysaccharide coupled to Tt;
- serotype 9V polysaccharide coupled to Tt;
- serotype 9V polysaccharide coupled to Dt;
- 20 - serotype 14 polysaccharide coupled to Dt;
- serotype 18C polysaccharide coupled to Dt;
- serotype 18C polysaccharide coupled to Tt;
- serotype 19F polysaccharide coupled to Tt;
- serotype 23F polysaccharide coupled to Tt; and
- 25 - serotype 23F polysaccharide coupled to Dt.

Such a polysaccharide may be advantageously extracted from the microorganism according to conventional methods and purified likewise. This polysaccharide may be used in the crude form after extraction/purification. Alternatively, it may be fragmented in order to obtain a polysaccharide having an average molecular weight less than that of the polysaccharide originally extracted. A particularly advantageous fermentation method is described in WO 93/7178 which is incorporated by way of reference.

A conjugate in which a polysaccharide is coupled by covalent bonding to a carrier protein may be obtained according to conventional methods well known to persons skilled in the art. It may make use of a



linker or a spacer to carry out the conjugation. Depending on the mode of conjugation used, the conjugate resulting therefrom may be a conjugate in which the polysaccharide is linked to the protein by a
5 single chemical function (sum or neoglycoconjugate type), or by several functions (random coil type). It is within the capability of persons skilled in the art to determine the most appropriate mode of conjugation as a function of the nature of the polysaccharide and
10 more particularly of the chemical groups carried by the polysaccharide which may be used during the conjugation reaction.

A composition according to the invention may be manufactured conventionally. In particular, it may be
15 formulated with a pharmaceutically acceptable diluent or vehicle, e.g. water or a saline solution. In addition, the composition may contain customary ingredients such as a buffer, a preservative or stabilizer, an adjuvant such as an aluminum compound,
20 e.g. an aluminium hydroxide, an aluminium phosphate or an aluminium hydroxyphosphate, and, where appropriate, a lyophilization excipient. In general, these products may be selected as a function of the mode and route of administration and based on standard pharmaceutical
25 practices. Appropriate carriers or diluents as well as what is essential for the preparation of a pharmaceutical composition are described in *Remington's Pharmaceutical Sciences*, a standard reference book in this field.

30 A composition according to the invention may be administered by any conventional route which is used in the field of vaccines, in particular by the systemic, i.e. parenteral, route, e.g. by the subcutaneous, intramuscular, intradermal or intravenous route, or by
35 the mucosal route, e.g. by the oral or nasal route.

The administration may take place in a single dose or in a dose repeated once or several times, e.g. once, twice or three times, after a certain interval of time. The appropriate dosage will vary as a function of



various parameters, for example the number of valencies contained in the composition, the nature of the polysaccharide(s) used or the mode of administration. As a guide, it is indicated that good results may be obtained with per valency, a polysaccharide dose of 0.5 to 100 μg , preferably of 1 to 50 μg , most preferably of 1 to 10 μg . A dose of the composition according to the invention may be advantageously in a volume of 0.1 to 2 ml.

There are presented below, by way of example, various pneumococcal vaccines having multiple valencies, the valencies being chosen from serotypes 1, 3, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F and 23F. The polysaccharides derived from these serotypes were fragmented according to the method described in WO 93/7178. The polysaccharides coupled to Tt (except the type 1 polysaccharide) were coupled according to the conjugation method described in WO 93/7178. Briefly, a polysaccharide is subjected to reductive amination in the presence of sodium cyanoborohydride in order to link a molecule of diaminoethane to a terminal reducing group. The polysaccharide thus derived is then activated by a succinimide group using disuccinimidyl suberate (DSS). The polysaccharide thus activated is reacted directly with the carrier protein. The serotype 1 polysaccharide was coupled Dt to Tt [sic] according to the conjugation method described in US patent No. 5,204,098 which is incorporated by way of reference. The other polysaccharides coupled to Dt were coupled as follows; hydrazide groups were incorporated onto the polysaccharide by reacting the polysaccharide with an excess of adipic acid dihydrazide (ADH) in the presence of ethyl dimethyl amino propyl carbodiimide (EDAC) and sodium cyanoborohydride (for all the types except 3) or simply in the presence of sodium cyanoborohydride (for type 3). The polysaccharide thus derived is reacted with the carrier protein in the presence of EDAC. The experimental conditions were controlled so as to obtain conjugates in which the quantity of protein is between



one and four times, preferably twice, the value of the quantity of polysaccharide. Thus, for a dose, 3 μ g of a particular polysaccharide are coupled to about 6 μ g of Dt and 1 μ g of a particular polysaccharide is coupled to about 2 μ g of Tt.

The Dt and Tt used were prepared by detoxification with formaldehyde starting with toxins extracted respectively from *Corynebacterium diphtheriae* and *Clostridium tetani*.

The formulations contain a phosphate buffer (0.475 mg of PO_4^{3-} ion per dose) and sodium chloride (4.5 mg per dose) and may be supplemented with aluminium hydroxide (alum) adjuvant (300 μ g of Al^{3+} ion per dose) and contain a preservative such as phenoxyethanol formalin. A dose is in the volume of 0.5 ml.

EXAMPLE 1: Octavalent formulation

Carrier protein	Polysaccharide	
	Serotype	Quantity per single dose
Dt	3	3 μ g
Tt	4	1 μ g
Dt	6B	10 μ g
Tt	9V	1 μ g
Dt	14	3 μ g
Dt	18C	3 μ g
Tt	19F	1 μ g
Tt	23F	1 μ g



EXAMPLE 2: Formulations F3, F4 and F3bis containing 11 valencies

Carrier Protein	Polysaccharide			
	Serogroup/ Serotype	Qty per single dose of formu- lation F3 (μ g)	Qty per single dose of formu- lation F4 (μ g)	Qty per single dose of formu- lation F3 bis (μ g)
Tt	1	1	-	1
Dt	1	-	3	-
Dt	3	3	3	3
Tt	4	1	1	1
Tt	5	1	-	1
Dt	5	-	3	-
Dt	6B	10	10	3
Tt	6B	-	-	1
Tt	7F	1	-	1
Dt	7F	-	3	-
Tt	9V	1	1	1
Dt	9V	-	-	3
Dt	14	3	3	3
Dt	18C	3	3	3
Tt	18C	-	-	1
Tt	19F	1	1	1
Tt	23F	1	1	1
Dt	23F	-	-	3

5 The approximate protein load in each of the three formulations is as follows:

	F3	F4	F3 bis
Dt	about 40 μ g	about 60 μ g	about 40 μ g
Tt	about 15 μ g	about 8 μ g	about 18 μ g

10 (which corresponds to a protein/polysaccharide weight ratio of about 2).



- 14A -

The reference to any prior art in this specification is not, and should not be taken as, an acknowledgment or any form of suggestion that that prior art forms part of the common general knowledge in Australia.

5 Throughout this specification and the claims which follow, unless the context requires otherwise, the word "comprise", and variations such as "comprises" and "comprising", will be understood to imply the inclusion of a stated integer or step or group of integers or steps but not the exclusion of any other integer or step or group of
10 integers or steps.

2000



THE CLAIMS DEFINING THE INVENTION ARE AS FOLLOWS:

1. Composition comprising "n" conjugates C1 to Cn, each conjugate being composed (i) of a polysaccharide
5 derived from a *Streptococcus pneumoniae* serotype/serogroup S1 to Sn respectively, and (ii) of a carrier protein P1 to Pn respectively; "n" being a number equal to or greater than 2; in which composition the polysaccharides S1 to Sn are identical or different and
10 in which the carrier proteins P1 to Pn are selected independently from a group consisting of "m" carrier proteins A1 to Am, "m" being a number equal to or greater than 2, provided that at least one of the carrier proteins P1 to Pn is different from the others.
- 15 2. Composition according to Claim 1, in which the conjugates C1 to Cn are all different from each other either by their polysaccharide or by their carrier protein or by their polysaccharide and their carrier protein.
- 20 3. Composition according to Claim 2, in which the polysaccharides S1 to Sn are all different from each other.
4. Composition according to Claim 1, 2 or 3, in which "n" is a number equal to or greater than 6.
- 25 5. Composition according to Claim 4, in which "n" is a number equal to or greater than 10.
6. Composition according to one of Claims 1 to 5, in which the carrier proteins P1 to Pn are independently selected from a group consisting of two
30 carrier proteins A1 and A2.
7. Composition according to Claim 6, in which when "n" is an even number, "n"/2 carrier proteins P1 to Pn are A1 and "n"/2 carrier proteins P1 to Pn are A2 or when "n" is an odd number, ("n"+1)/2 carrier proteins P1 to Pn are A1 and ("n"-1)/2 carrier proteins P1 to Pn are A2.
- 35 8. Composition according to one of Claims 1 to 7, in which at least one of the carrier proteins P1 to Pn



is the diphtheria toxoid (Dt) and at least one of the carrier proteins P1 to Pn is the tetanus toxoid (Tt).

9. Composition according to Claim 8, in which the carrier proteins P1 to Pn are selected from the group consisting of Dt and Tt.
10. Composition according to Claim 8 or 9, in which the quantity of Dt is less than or equal to 200 µg/dose.
11. Composition according to Claim 8, 9 or 10, in which the quantity of Tt is less than or equal to 50 µg/dose.
12. Composition according to Claim 1, which comprises 10 or 11 valencies represented by 10 or 11 conjugates in which the polysaccharides are all different from each other and are derived from the serotypes chosen from serotypes 1, 3, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F and 23F of *S. pneumoniae*.
13. Composition according to Claim 12, which comprises 10 or 11 conjugates selected from:
- serotype 1 polysaccharide coupled to Tt or to Dt;
 - serotype 3 polysaccharide coupled to Dt;
 - serotype 4 polysaccharide coupled to Tt;
 - serotype 5 polysaccharide coupled to Tt or to Dt;
 - serotype 6B polysaccharide coupled to Dt;
 - serotype 7F polysaccharide coupled to Tt or to Dt;
 - serotype 9V polysaccharide coupled to Tt;
 - serotype 14 polysaccharide coupled to Dt;
 - serotype 18C polysaccharide coupled to Dt;
 - serotype 19F polysaccharide coupled to Tt; and
 - serotype 23F polysaccharide coupled to Tt.
14. Composition according to Claim 1, which comprises 10 or 11 valencies represented by 12 to 22, especially 12 to 15 conjugates, in which the polysaccharides are derived from the serotypes chosen from serotypes 1, 3, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F and 23F; in which composition conjugates of the same valency differ from each other in the carrier protein.
15. Composition according to Claim 14, which comprises:

- serotype 1 polysaccharide coupled to Tt;
 - serotype 3 polysaccharide coupled to Dt;
 - serotype 4 polysaccharide coupled to Tt;
 - serotype 5 polysaccharide coupled to Tt;
 - 5 - serotype 6B polysaccharide coupled to Dt;
 - serotype 6B polysaccharide coupled to Tt;
 - serotype 7F polysaccharide coupled to Tt;
 - serotype 9V polysaccharide coupled to Tt;
 - serotype 9V polysaccharide coupled to Dt;
 - 10 - serotype 14 polysaccharide coupled to Dt;
 - serotype 18C polysaccharide coupled to Dt;
 - serotype 18C polysaccharide coupled to Tt;
 - serotype 19F polysaccharide coupled to Tt;
 - serotype 23F polysaccharide coupled to Tt; and
 - 15 - serotype 23F polysaccharide coupled to Dt.
16. Composition which comprises "n" conjugates C1 to Cn, each conjugate being composed (i) of a polysaccharide S1 to Sn respectively and (ii) of a carrier protein P1 to Pn respectively, "n" being a
- 20 number equal to or greater than 2; in which composition the polysaccharides S1 to Sn are identical or different and in which the carrier proteins P1 to Pn are selected independently from a group consisting of diphtheria (Dt) and tetanus (Tt) toxoids, provided that at least
- 25 one of the carrier proteins P1 to Pn is different from the others; and which is characterized in that the quantity of Dt and Tt is respectively less than or equal to 200 and 50 µg/dose.
17. Composition according to Claim 16, in which the
- 30 conjugates C1 to Cn are all different from each other either by their polysaccharide or by their carrier protein or by their polysaccharide and their carrier protein.
18. Composition according to Claim 17, in which the
- 35 polysaccharides S1 to Sn are all different from each other.
19. Composition according to Claim 16, 17 or 18, in which "n" is a number equal to or greater than 6.

20. Composition according to Claim 19, in which "n" is a number equal to or greater than 10.
21. Composition according to one of Claims 16 to 20, in which the polysaccharides S1 to Sn are of
5 bacterial origin.
22. Composition according to Claim 21, in which the polysaccharides S1 to Sn are all derived from the same bacterial species.
23. Composition according to Claim 22, in which the
10 polysaccharides S1 to Sn are all derived from the species *Streptococcus pneumoniae*.

24. A composition according to any one of claims 1 to 23, substantially as hereinbefore described with reference to the examples.

DATED this 25th day of March 2002.

PASTEUR MERIEUX SERUMS & VACCINS
by their Patent Attorneys
DAVIES COLLISON CAVE





DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁶ : A61K 39/09, 39/385	AI	(11) Numéro de publication internationale: WO 98/51339 (43) Date de publication internationale: 19 novembre 1998 (19.11.98)
(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR98/00966 (22) Date de dépôt international: 14 mai 1998 (14.05.98) (30) Données relatives à la priorité: 97/06210 14 mai 1997 (14.05.97) FR (71) Déposant (<i>pour tous les Etats désignés sauf US</i>): PASTEUR MERIEUX SERUMS & VACCINS [FR/FR]; 58, avenue Leclerc, Boite postale 7046, F-69348 Lyon Cedex 07 (FR). (72) Inventeur; et (75) Inventeur/Déposant (<i>US seulement</i>): LEROY, Odile [FR/FR]; 13, rue des Quatre Vents, F-92360 Garches (FR). (74) Mandataire: AYROLES, Marie-Pauline; Pasteur-Mérieux Sérum & Vaccins, Direction Propriété Industrielle, 58, avenue Leclerc, Boite postale 7046, F-69348 Lyon Cedex 07 (FR).		(81) Etats désignés: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, GW, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), brevet eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale. Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues.</i>
(54) Title: MULTIVALENT VACCINE COMPOSITION WITH MIXED CARRIER (54) Titre: COMPOSITION VACCINALE MULTIVALENTE A PORTEUR MIXTE (57) Abstract <p>The invention concerns a pharmaceutical composition for treating or preventing a certain number of infections caused by pathogenic agents such as bacteria, comprising as immunogen, one or several polysides derived from one or several pathogenic agents. The polysides are in the form of conjugates, coupled with a carrier protein. The composition contains at least two types of conjugates, each being at least characterised by a different protein carrier.</p> <p>(57) Abrégé</p> <p>La présente invention a pour objet une composition pharmaceutique destinée au traitement ou à la prévention d'un certain nombre d'infections dues à des agents pathogènes tels que les bactéries, qui comprend à titre d'agent immunogène, un ou des polysides dérivés d'un ou de plusieurs agents pathogènes. Les polysides sont sous forme de conjugués, couplés à une protéine porteuse. La composition contient au moins deux types de conjugués, chacun étant au moins caractérisé par une protéine porteuse différente.</p>		

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	Bésil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CJ	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Cameroun	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakhstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Libéria	SG	Singapour		
EE	Estonie						

Composition Vaccinale Multivalente à Porteur Mixte

La présente invention a pour objet une composition pharmaceutique destinée au traitement ou à la prévention d'un certain nombre d'infections dues à des agents pathogènes tels que les bactéries, qui comprend à titre d'agent immunogène, des polysides dérivés d'un ou de plusieurs agents pathogènes.

Les bactéries ainsi que les champignons tels que des levures incorporent des polysides dans leur structure de surface. Ainsi la grande majorité des bactéries sont recouvertes d'un exsudat de nature polysidique qui est fixé à la bactérie de manière plus ou moins forte mais qui n'est pas à proprement parler une enveloppe. Cet exsudat porte le nom de glycocalyx ou de capsule. D'autre part la membrane externe des bactéries gram-négatives est entre autre constituée de lipopolysaccharide (LPS). Enfin, des polysides se retrouvent aussi dans la paroi des champignons. Ces polysides sont en fait des antigènes de surface qui induisent une réponse immune chez un mammifère infecté.

De tels polysides sont constitués sur la base d'unités dans lesquelles les constituants et les liaisons sont définis et qui sont caractéristiques de l'espèce bactérienne ou fongique considérée. Ces unités répétitives contiennent les épitopes, c'est-à-dire les structures déterminantes de l'antigénicité.

Les polysides de microorganismes pathogènes sont réputés être de bons agents vaccinaux. Tels quels ils sont efficaces chez les adultes et les enfants de plus de deux ans. Par contre chez les nourrissons, certains sont peu ou pas immunogéniques et n'induisent pas de réponse immunitaire. Il est possible de surmonter ce problème, en couplant par liaison covalente les polysides à une protéine dite porteuse telle que l'anatoxine diphtérique ou tétanique, de manière à obtenir un conjugué polyside - protéine porteuse.

Une même composition vaccinale peut contenir plusieurs conjugués. En effet, la tendance veut que l'on rassemble plusieurs agents vaccinaux destinés à prévenir ou à traiter des infections induites par des agents pathogènes d'espèces différentes ; ceci entre autre, afin de limiter le nombre d'administrations dans la vie d'un individu. De plus, au sein d'une même espèce, il peut exister plusieurs sérogroupes / sérotypes largement représentés au plan régional ou mondial. On rappelle qu'un séro groupe / sérotype est caractérisé entre autres par la nature du polyside de capsule et que des polysides de sérogroupes différents ne présentent généralement pas de réaction immunologique croisée. Dans ce cas, il peut

donc être nécessaire de réunir les polysides provenant de différents sérogroupes, afin de lutter avec efficacité contre une infection due à une seule et même espèce.

Ainsi, cela est par exemple le cas lorsque l'on cherche à vacciner à l'encontre des infections à *Streptococcus pneumoniae*. Les infections à pneumocoques sont un réel problème de santé publique notamment dans la mesure où on les rencontre dans les formes sévères de pneumonies, de septicémies et de méningites. Dans les pays industrialisés, elles affectent chaque année 30 à 100 per 100,000 enfants de moins de trois ans. Le taux de mortalité dans les cas de bactériémies et de méningites est de 15 à 30 % tandis que 5 % des enfants meurent de pneumonies.

Une étude effectuée en Finlande de 1985 à 1989 montre que 90 % des infections invasives sont dues à 8 groupes de sérogroupes / sérotypes. Les sérogroupes / sérotypes 14, 6 et 19 sont responsables de 54 % des cas, le sérotype 14 étant prédominant chez les enfants de moins de deux ans. D'autres pneumocoques fréquemment isolés appartiennent aux sérogroupes 7, 18 et 23 ; d'autres encore, plus rares appartiennent aux sérogroupes / sérotypes 9 et 4. Une distribution similaire a été mise en évidence dans d'autres pays industrialisés, en particulier aux Etats-Unis.

D'autre part, *Streptococcus pneumoniae* est responsable d'un certain nombre d'otites, infections plus bénignes mais très courantes. On évalue à environ 75 % le nombre d'enfants ayant été atteints d'une otite avant l'âge de six ans et à 30 à 50 % le nombre d'otites dues au pneumocoque. Dans les pays développés, les otites à pneumocoque sont dues au séro groupe 19 dans 25 % des cas ; suivis par les sérogroupes / sérotypes 23 (13 %), 6 et 14 (12 %), 9 et 18 (4 %) et 4 et 1 (2 %).

Un vaccin pneumocoque contenant les polysides de 23 sérotypes est déjà commercialisé. Ce vaccin permet de combattre de manière efficace les infections invasives chez les adultes et possède une action transitoire chez les enfants de plus de sept mois.

Les polysides capsulaires des pneumocoques sont des antigènes T-indépendants *i.e.*, ils peuvent induire des anticorps, de préférence du type IgM, sans l'aide des cellules T et ne sont pas capables de promouvoir une réponse rappel de type IgG. Lorsqu'ils sont couplés à une protéine porteuse, ces polysides se révèlent alors capable d'induire une réponse T-dépendante, tout spécialement chez les nouveau-nés et devraient conférer une protection à long terme.

Des études cliniques ont été effectuées en Finlande et en Israël, avec des vaccins pneumocoque à quatre valences contenant des conjugués 6B, 9V, 18C et 23F dans lesquels le polyside était couplé soit à de la Dt ou à de la Tt. Les doses étaient de 1, 3 ou 10 µg de polyside par valence. Chacune de ces formulations a été administrée simultanément avec un vaccin anti - *Haemophilus* (polyribitolphosphate couplé à de la Tt ; Act-HIB commercialisé par Pasteur Mérieux Connaught) et un vaccin anti - diphtérie, tétanos, coqueluche (pour la Finlande, D.T.Coq commercialisé par KTL). De plus, ces trois administrations ont été mises en oeuvre accompagnées ou non par une administration simultanée d'un vaccin polio oral ou injectable. Elles ont été répétées deux fois à quelques semaines d'intervalle, puis une fois, un an après la primo-immunisation.

Les résultats de ces études tels que rapportés dans le tableau ci-après ont permis de mettre en évidence un effet d'interférence négative de la charge en anatoxines diphtérique et tétanique sur l'induction des anticorps anti-HiB, après la dernière immunisation.

Etude finlandaise	Anticorps anti-HiB en µg/ml
Placebo	11.0
Tetravalent pneumo	
Tt : 1 µg	10.1
3 µg	7.18
10 µg	4.11
Dt : 1 µg	11.5
3 µg	12.5
10 µg	7.18

Etude israélienne	Anticorps anti-HiB en µg/ml
Placebo	6.62
Tetravalent pneumo	
Tt : 3 µg	2.81
Dt : 3 µg	4.62

Un effet d'interférence similaire a été observé au cours d'une étude clinique en Islande dans laquelle les nourrissons avaient reçus du Pro HIBit (PRP couplé à de la Dt ; Connaught) à la place de l'Act-HIB.

D'une manière plus générale, on prévoit que, quel que soit le vaccin à base de polysides conjugués, il existe dans le vaccin conjugué ou dans l'association ou la combinaison vaccinale administrée, une charge maximale en Dt et en Tt ou en toute autre protéine au-delà de laquelle la réponse immune à l'encontre des polysides conjugués à cette protéine peut être diminuée. Afin de surmonter le problème que constitue le phénomène d'interférence négative dans les vaccins multivalents composés de conjugués polysidiques, la présente demande propose d'utiliser non pas une mais au moins deux protéines porteuses afin que la charge maximale en chacune des protéines porteuses ne soit pas atteinte.

C'est pourquoi l'invention a pour objet une composition comprenant "n" conjugués C1 à Cn ; chaque conjugué étant composé (i) d'un polyside, en particulier d'un polyside issu d'un sérotype / séro groupe de *Streptococcus pneumoniae*, S1 à Sn respectivement et, (ii) d'une protéine porteuse P1 à Pn respectivement ; "n" étant un nombre égal ou supérieur à 2 ; composition dans laquelle les polysides S1 à Sn sont identiques ou différents et dans laquelle les protéines porteuses P1 à Pn sont sélectionnées de manière indépendante parmi un groupe constitué de "m" protéines porteuses A1 à Am ; "m" étant un nombre égal ou supérieur à 2 ; à condition qu'au moins une des protéines porteuses P1 à Pn soit différente des autres.

Sous un autre aspect, l'invention a aussi pour objet une composition qui comprend "n" conjugués C1 à Cn, chaque conjugué étant composé (i) d'un polyside S1 à Sn respectivement et, (ii) d'une protéine porteuse P1 à Pn respectivement, "n" étant un nombre égal ou supérieur à 2 ; composition dans laquelle les polysides S1 à Sn sont identiques ou différents et dans laquelle les protéines porteuses P1 à Pn sont sélectionnées de manière indépendante parmi un groupe constitué des anatoxines diphtérique (Dt) et tétanique (Tt), à condition qu'au moins une des protéines porteuses P1 à Pn soit différente des autres ; et qui est caractérisée en ce que la quantité en Dt et Tt est respectivement inférieure ou égale à 200 et 50 µg / dose. En d'autres termes, une composition selon l'invention, comprend un ou plusieurs conjugués polysidiques dans le ou lesquels le polyside est couplé à l'anatoxine diphtérique (Dt) et un ou plusieurs conjugués polysidiques dans le ou lesquels le polyside est couplé à l'anatoxine tétanique (Tt) et est caractérisée en ce que la quantité de Dt et Tt est respectivement inférieure ou égale à 200 et 50 µg / dose.

A titre illustratif, on envisage les compositions suivantes :

(i) Une composition contenant au moins trois conjugués $C_1, C_2, C_3, \dots C_n$; de formules $S_1-P_1, S_2-P_2, S_3-P_3, \dots S_n-P_n$, avec : S_1 à S_n identiques entre eux et P_1 à P_n toutes différentes entre elles ;

(ii) Une composition contenant au moins trois conjugués $C_1, C_2, C_3, \dots C_n$; de formules $S_1-P_1, S_2-P_2, S_3-P_3, \dots S_n-P_n$, avec : S_1 à S_n tous différents entre eux, P_1 et P_2 identiques entre elles, P_3 à P_n identiques entre elles et P_1 et P_2 différentes de P_3 à P_n ; et

(iii) Une composition contenant au moins trois conjugués $C_1, C_2, C_3, \dots C_n$; de formules $S_1-P_1, S_2-P_2, S_3-P_3, \dots S_n-P_n$, avec : S_1 et S_2 identiques entre eux, S_3 à S_n identiques entre eux, S_1 et S_2 différents de S_3 à S_n , P_1 et P_3 identiques entre elles, P_2 à P_n , à l'exclusion de P_3 , identiques entre elles et P_1 et P_3 différentes de P_2 à P_n (- P_3).

Ainsi, aux fins de la présente invention, les conjugués C_1 à C_n nécessairement tous différents entre eux, peuvent l'être deux à deux soit par leur polyoside, soit par leur protéine porteuse ou par leur polyoside et leur protéine porteuse. Selon un mode particulier, les polyosides mis en oeuvre sont tous différents entre eux.

Le nombre "n" de conjugués présents dans une composition selon l'invention est égal ou supérieur à 2, et peut en particulier être égal ou supérieur à 3, 4, 6, 8, 10, 11, 12, 15 ou 20. D'une manière générale ce nombre "n" peut être déterminé par l'homme de l'art en fonction d'un certain nombre de critères notamment liés à la nature même de la composition, aux objectifs que cette composition doit permettre d'atteindre et à la population à laquelle cette composition est destinée. Par exemple, dans le cas d'une composition destinée à traiter ou à prévenir des infections à pneumocoque chez le nourrisson, on considère qu'une telle composition, pour offrir une protection de bon niveau et à l'échelle mondiale, doit contenir au moins 8, de préférence au moins 10, de manière tout particulièrement préférée au moins 11 valences, pouvant être représentées par au moins 11 conjugués ou plus.

Par "polyoside" on entend un polymère constitué d'une pluralité d'unités répétitives osidiques, notamment de plus de quatre unités répétitives, quelle que soit la longueur de la chaîne osidique et quel que soit le poids moléculaire moyen du polyoside. Ce terme englobe en particulier celui d'oligoside.

Par "conjugué" on entend un composé dans lequel un polyside est lié de manière covalente à une protéine porteuse.

Ainsi que précédemment énoncé, une composition selon l'invention doit mettre en oeuvre au moins deux protéines porteuses. Ces protéines porteuses peuvent être choisies parmi toutes celles couramment en usage dans le domaine des vaccins. Il peut notamment s'agir de l'anatoxine diphtérique (Dt), de l'anatoxine tétanique (Tt), de la forme mutante non-toxique CRM197 de la toxine diphtérique et de la protéine de membrane externe de type 1 (OMP1) de *Neisseria meningitidis* ou de tout variant, analogue ou fragment de ces dernières ayant conservé la capacité de porteur. Les procédés permettant d'obtenir ces protéines sous forme purifiée sont bien connus de l'homme de l'art. Le terme "protéine" tel que utilisé dans la présente demande s'applique à toute chaîne d'acides aminés, quelque soit la longueur de la chaîne. En particulier, ce terme englobe la notion de peptide.

De manière générale, le groupe des protéines A1 à Am dans lequel on sélectionne de manière indépendante les protéines porteuses P1 à Pn, représente donc l'ensemble des protéines possédant un effet porteur. Pour ses besoins personnels, l'homme de l'art peut convenir que son choix se limitera à un nombre défini de protéines et en conséquence, il peut définir le groupe à partir duquel il effectuera sa sélection sur la base d'un nombre "m" de composants égal ou supérieur à 2 et au plus égal à "n" ; "n" étant tel que défini ci-avant. En particulier, l'homme de l'art peut déterminer le nombre minimal de protéines porteuses différentes qui est nécessaire, afin d'éviter le phénomène d'interférence. Pour ce faire, il prendra en compte la charge maximale à ne pas dépasser pour chacune des protéines porteuses. On appelle "charge maximale" la quantité de protéine porteuse au-delà de laquelle on observe une réponse immune diminuée à l'encontre d'un ou des polysides par comparaison avec une composition monovalente correspondante (conjugué pris séparément).

En particulier en ce qui concerne l'anatoxine diphtérique et l'anatoxine tétanique, on estime que de manière avantageuse, la quantité de ces protéines présentes dans une dose d'une composition selon l'invention ne doit pas excéder 200 et 50 µg respectivement ; une telle dose étant prévue pour administration chez un mammifère, de préférence un humain. De préférence, la charge en Dt est inférieure ou égale à 150, 120 ou 100 µg ; de manière tout particulièrement préférée, à 80 ou 60 µg. De préférence, la charge en Tt est inférieure ou égale à 35 ou 25 µg ; de manière tout particulièrement préférée, à 20 ou 10 µg.

Ainsi, on peut convenir que pour une composition ne mettant en oeuvre que deux protéines porteuses différentes, la sélection de ces protéines s'effectuera à partir d'un groupe constitué des protéines A1 et A2. De préférence, A1 et A2 peuvent être l'anatoxine diphtérique (Dt) et l'anatoxine tétanique (Tt) respectivement ou vice et versa.

Selon un mode particulier, une composition mettant en oeuvre uniquement deux protéines porteuses différentes se caractérise par une répartition équilibrée du nombre de polysides conjugués à la première protéine porteuse et du nombre de polysides conjugués à la deuxième protéine porteuse. Par exemple, lorsque "n" est un nombre pair, "n"/2 protéines porteuses P1 à Pn sont A1 et "n"/2 protéines porteuses P1 à Pn sont A2 ou lorsque "n" est un nombre impair, ("n"+1)/2 protéines porteuses P1 à Pn sont A1 et ("n"-1)/2 protéines porteuses P1 à Pn sont A2.

Un polyside utile aux fins de la présente invention peut notamment être un polyside d'origine bactérienne ou fongique. Il peut notamment s'agir d'un polyside de *Streptococcus* e.g., *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Salmonella* e.g., *Salmonella typhi*, *Escherichia*, *Shigella*, *Neisseria* e.g., *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus* e.g., *Haemophilus influenzae*, *Moraxella*, *Vibrio cholerae* ou *Mycobacterium tuberculosis*.

Au sein d'une composition selon l'invention, les polysides peuvent provenir d'espèces différentes ou bien tous provenir de la même espèce e.g., de la même espèce bactérienne, éventuellement de sérogroupes / sérotypes différents. Afin d'illustrer cette dernière possibilité on cite une composition selon l'invention destinée à vacciner contre les infections à pneumocoque, qui contient au moins 8 valences, de préférence 10 ou 11 valences choisies parmi les sérotypes 1, 3, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F et 23F.

Ainsi, une composition constituant un vaccin pneumocoque comprend avantageusement 10 ou 11 valences e.g., représentées par 10 ou 11 conjugués dans lesquels les polysides sont tous différents entre eux et dérivent (ont pour origine) des sérotypes / sérogroupes choisis parmi les sérotypes 1, 3, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F et 23F de *S. pneumoniae*. Il peut notamment s'agir d'une composition qui comprend 10 ou 11 conjugués sélectionnés parmi :

- le polyside de sérotype 1 couplé à la Tt ou à la Dt ;
- le polyside de sérotype 3 couplé à la Dt ;

- le polyside de sérotype 4 couplé à la Tt ;
- le polyside de sérotype 5 couplé à la Tt ou à la Dt ;
- le polyside de sérotype 6B couplé à la Dt ;
- le polyside de sérotype 7F couplé à la Tt ou à la Dt ;
- 5 - le polyside de sérotype 9V couplé à la Tt ;
- le polyside de sérotype 14 couplé à la Dt ;
- le polyside de sérotype 18C couplé à la Dt ;
- le polyside de sérotype 19F couplé à la Tt ; et
- le polyside de sérotype 23F couplé à la Tt.

10

Sous un autre aspect, une composition constituant un vaccin pneumocoque peut comprendre 10 ou 11 valences représentées par 12 à 22, notamment 12 à 15 conjugués, dans lesquels les polysides dérivent des sérotypes choisis parmi les sérotypes 1, 3, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F et 23F ; composition dans laquelle des conjugués de même

15 valence diffèrent entre eux par la protéine porteuse. Il peut notamment s'agir d'une composition qui comprend :

15

- le polyside de sérotype 1 couplé à la Tt ;
- le polyside de sérotype 3 couplé à la Dt ;
- le polyside de sérotype 4 couplé à la Tt ;
- 20 - le polyside de sérotype 5 couplé à la Tt ;
- le polyside de sérotype 6B couplé à la Dt ;
- le polyside de sérotype 6B couplé à la Tt ;
- le polyside de sérotype 7F couplé à la Tt ;
- le polyside de sérotype 9V couplé à la Tt ;
- 25 - le polyside de sérotype 9V couplé à la Dt ;
- le polyside de sérotype 14 couplé à la Dt ;
- le polyside de sérotype 18C couplé à la Dt ;
- le polyside de sérotype 18C couplé à la Tt ;
- le polyside de sérotype 19F couplé à la Tt ;
- 30 - le polyside de sérotype 23F couplé à la Tt ; et
- le polyside de sérotype 23F couplé à la Dt.

30

Un tel polyside peut être avantageusement extrait du microorganisme selon des procédés conventionnels et purifié de même. Ce polyside peut être utilisé sous forme brute après extraction / purification. Ou bien encore il peut être fragmenté afin d'obtenir un polyside de poids moléculaire moyen inférieur à celui du polyside extrait à l'origine. Un

35

procédé de fragmentation particulièrement avantageux est décrit dans WO 93/7178, incorporé par référence.

Un conjugué dans lequel un polyside est couplé par liaison covalente à une protéine porteuse peut être obtenu selon des procédés conventionnels bien connus de l'homme de l'art. Il peut être fait usage de linker ou de spacer afin d'assurer la conjugaison. Selon le mode de conjugaison mis en oeuvre, le conjugué qui en résulte peut être un conjugué dans lequel le polyside est lié à la protéine par une seule fonction chimique (type soleil ou néoglycoconjugué), ou par plusieurs fonctions (type pelote). Il est à la portée de l'homme de l'art déterminer le mode de conjugaison le plus approprié en fonction de la nature du polyside et plus particulièrement des groupements chimiques portés par le polyside qui peuvent être mis en jeu au cours de la réaction de conjugaison.

Une composition selon l'invention peut être fabriquée de manière conventionnelle. En particulier, elle peut être formulée avec un diluent ou un support acceptable d'un point de vue pharmaceutique *e.g.*, de l'eau ou une solution saline. En outre la composition peut contenir des ingrédients usuels tel qu'un tampon ; un agent conservateur ou stabilisant ; un adjuvant tel qu'un composé d'aluminium *e.g.*, un hydroxide d'aluminium, un phosphate d'aluminium ou un hydroxy phosphate d'aluminium ; et le cas échéant un excipient de lyophilisation. En général, ces produits peuvent être sélectionnés en fonction du mode et de la voie d'administration et selon les pratiques pharmaceutiques standard. Des porteurs ou des diluants appropriés ainsi que ce qui est indispensable à l'élaboration d'une composition pharmaceutique sont décrits dans *Remington's Pharmaceutical Sciences*, un livre de référence standard dans ce domaine.

Une composition selon l'invention peut être administrée par n'importe quelle voie conventionnelle en usage dans le domaine des vaccins, en particulier par voie systémique *i.e.*, parentérale *e.g.*, par voie sous-cutanée, intramusculaire, intradermique ou intraveineuse ; ou par voie muqueuse *e.g.*, par voie orale ou nasale.

L'administration peut avoir lieu en dose unique ou répétée une ou plusieurs fois *e.g.* 1, 2 ou 3 fois, après un certain délai d'intervalle. Le dosage approprié varie en fonction de divers paramètres, par exemple du nombre de valences contenues dans la composition, de la nature du ou des polysides utilisés ou du mode d'administration. A titre indicatif on indique que de bons résultats peuvent être obtenus avec par valence, une dose de polyside de 0.5 à 100 µg, de préférence de 1 à 50 µg, de manière tout à fait préférée de 1 à 10 µg.

Une dose de la composition selon l'invention peut être avantageusement sous un volume de 0.1 à 2 ml.

Ci-après on présente à titre d'exemple, différents vaccins pneumocoque à valences multiples ; les valences étant choisies parmi les sérotypes 1, 3, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F et 23F. Les polysides issus de ces sérotypes ont été fragmentés selon le procédé décrit dans WO 93/7178. Les polysides couplés à la Tt (sauf le polyside de type 1), l'ont été selon le procédé de conjugaison décrit dans WO 93/7178. Brièvement, un polyside est soumis à une amination réductrice en présence de cyanoborohydrure de sodium afin de lier une molécule de diaminohexane à un groupe réducteur terminal. Puis le polyside ainsi dérivé est activé par un groupe succinimide en utilisant du disuccinimidyl suberate (DSS). Le polyside ainsi activé est mis à réagir directement avec la protéine porteuse. Le polyside de sérotype 1 a été couplé à la Tt selon le procédé de conjugaison décrit dans le brevet US n° 5,204,098, incorporé par référence. Les autres polysides couplés à la Dt, l'ont été comme suit : Des groupes hydrazide sont incorporés sur le polyside en faisant réagir le polyside avec un excès d'acide adipique dihydrazide (ADH) en présence d'éthyl diméthyl amino propyl carbodiimide (EDAC) et de cyanoborohydrure de sodium (pour tous les types sauf le 3) ou simplement en présence de cyanoborohydrure de sodium (pour le type 3). Le polyside ainsi dérivé est mis à réagir avec la protéine porteuse en présence d'EDAC. Les conditions expérimentales ont été contrôlées de manière à ce que l'on obtienne des conjugués dans lesquels la quantité de protéine soit comprise entre 1 et 4 fois, de préférence 2 fois, la valeur de la quantité de polyside. Ainsi, pour une dose, 3 µg d'un polyside particulier sont couplés à environ 6 µg de Dt et 1 µg d'un polyside particulier est couplé à environ 2 µg de Tt.

La Dt et la Tt utilisées ont été préparées par détoxification au formaldéhyde à partir des toxines extraites respectivement de *Corynebacterium diphtheriae* et de *Clostridium tetani*.

Les formulations contiennent un tampon phosphate (0.475 mg d'ion PO_4^{2-} par dose) et du chlorure de sodium (4.5 mg par dose) et peuvent être adjuvantées par de l'hydroxyde d'aluminium (alum) (300 µg d'ion Al^{3+} par dose) et contenir un conservateur tel que le phénoxy éthanol formol. Une dose est sous un volume de 0.5 ml.

EXEMPLE 1 : Formulation octavalente

Protéine porteuse	Polyoside	
	Sérotype	Quantité pour une dose
Dt	3	3 µg
Tt	4	1 µg
Dt	6B	10 µg
Tt	9V	1 µg
Dt	14	3 µg
Dt	18C	3 µg
Tt	19F	1 µg
Tt	23F	1 µg

5

EXEMPLE 2 : Formulations F3, F4 et F3bis à 11 valences

Protéine porteuse	Polyoside			
	Sérogroupe / Sérotype	Quantité pour une dose de formulation F3 (µg)	Quantité pour une dose de formulation F4 (µg)	Quantité pour une dose de formulation F3 bis (µg)
Tt	1	1	-	1
Dt	1	1	1	-
Dt	3	3	3	3
Tt	3	1	1	1
Tt	5	1	3	1
Dt	5	3	3	
Dt	6B	10	10	3
Tt	6B	3	-	1
Tt	7F	1	-	1
Dt	7F	-	3	-
Tt	9V	1	1	1
Dt	9V	-	-	3
Dt	14	3	3	3

Dt	18C	3	3	3
Tt	18C	-	-	1
Tt	19F	1	1	1
Tt	23F	1	1	1
Dt	23F	-	-	3

La charge approximative en protéine dans chacune des trois formulations est comme suit :

	F3	F4	F3 bis
Dt	environ 40 µg	environ 60 µg	environ 40 µg
Tt	environ 15 µg	environ 8 µg	environ 18 µg

5

(ce qui correspond à un rapport pondéral protéine/polyoside de 2 environ).

Revendications

1. Une composition comprenant "n" conjugués C1 à Cn ; chaque conjugué étant composé (i) d'un polyside issu d'un sérotype / séro groupe de *Streptococcus pneumoniae*, S1 à Sn respectivement et, (ii) d'une protéine porteuse P1 à Pn respectivement ; "n" étant un nombre égal ou supérieur à 2 ; composition dans laquelle les polysides S1 à Sn sont identiques ou différents et dans laquelle les protéines porteuses P1 à Pn sont sélectionnées de manière indépendante parmi un groupe constitué de "m" protéines porteuses A1 à Am ; "m" étant un nombre égal ou supérieur à 2 ; à condition qu'au moins une des protéines porteuses P1 à Pn soit différente des autres.
2. Une composition selon la revendication 1, dans laquelle les conjugués C1 à Cn sont tous différents entre eux soit par leur polyside, soit par leur protéine porteuse ou par leur polyside et leur protéine porteuse.
3. Une composition selon la revendication 2, dans laquelle les polysides S1 à Sn sont tous différents entre eux.
4. Une composition selon la revendication 1, 2 ou 3, dans laquelle "n" est un nombre égal ou supérieur à 6.
5. Une composition selon la revendication 4, dans laquelle "n" est un nombre égal ou supérieur à 10.
6. Une composition selon l'une des revendications 1 à 5, dans laquelle les protéines porteuses P1 à Pn sont sélectionnées de manière indépendante parmi un groupe constitué de deux protéines porteuses A1 et A2.
7. Une composition selon la revendication 6, dans laquelle, lorsque "n" est un nombre pair, "n"/2 protéines porteuses P1 à Pn sont A1 et "n"/2 protéines porteuses P1 à Pn sont A2 ou lorsque "n" est un nombre impair, ("n"+1)/2 protéines porteuses P1 à Pn sont A1 et ("n"-1)/2 protéines porteuses P1 à Pn sont A2.

8. Une composition selon l'une des revendications 1 à 7, dans laquelle au moins une des protéines porteuses P1 à Pn est l'anatoxine diphthérique (Dt) et au moins une des protéines porteuses P1 à Pn est l'anatoxine tétanique (Tt).
9. Une composition selon la revendication 8, dans laquelle les protéines porteuses P1 à Pn sont sélectionnées parmi le groupe constitué par la Dt et la Tt.
10. Une composition selon la revendication 8 ou 9, dans laquelle la quantité de Dt est inférieure ou égale à 200 µg / dose.
11. Une composition selon la revendication 8, 9 ou 10, dans laquelle la quantité de Tt est inférieure ou égale à 50 µg / dose.
12. Une composition selon la revendication 1, qui comprend 10 ou 11 valences représentées par 10 ou 11 conjugués dans lesquels les polysides sont tous différents entre eux et dérivent des sérotypes choisis parmi les sérotypes 1, 3, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F et 23F de *S. pneumoniae*.
13. Une composition selon la revendication 12, qui comprend 10 ou 11 conjugués sélectionnés parmi :
 - le polyside de sérotype 1 couplé à la Tt ou à la Dt ;
 - le polyside de sérotype 3 couplé à la Dt ;
 - le polyside de sérotype 4 couplé à la Tt ;
 - le polyside de sérotype 5 couplé à la Tt ou à la Dt ;
 - le polyside de sérotype 6B couplé à la Dt ;
 - le polyside de sérotype 7F couplé à la Tt ou à la Dt ;
 - le polyside de sérotype 9V couplé à la Tt ;
 - le polyside de sérotype 14 couplé à la Dt ;
 - le polyside de sérotype 18C couplé à la Dt ;
 - le polyside de sérotype 19F couplé à la Tt ; et
 - le polyside de sérotype 23F couplé à la Tt.
14. Une composition selon la revendication 1, qui comprend 10 ou 11 valences représentées par 12 à 22, notamment 12 à 15 conjugués, dans lesquels les polysides dérivent des sérotypes choisis parmi les sérotypes 1, 3, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C,

19F et 23F ; composition dans laquelle des conjugués de même valence diffèrent entre eux par la protéine porteuse.

15. Une composition selon la revendication 14, qui comprend :

- le polyside de sérotype 1 couplé à la Tt ;
- le polyside de sérotype 3 couplé à la Dt ;
- le polyside de sérotype 4 couplé à la Tt ;
- le polyside de sérotype 5 couplé à la Tt ;
- le polyside de sérotype 6B couplé à la Dt ;
- le polyside de sérotype 6B couplé à la Tt ;
- le polyside de sérotype 7F couplé à la Tt ;
- le polyside de sérotype 9V couplé à la Tt ;
- le polyside de sérotype 9V couplé à la Dt ;
- le polyside de sérotype 14 couplé à la Dt ;
- le polyside de sérotype 18C couplé à la Dt ;
- le polyside de sérotype 18C couplé à la Tt ;
- le polyside de sérotype 19F couplé à la Tt ;
- le polyside de sérotype 23F couplé à la Tt ; et
- le polyside de sérotype 23F couplé à la Dt.

16. Une composition qui comprend "n" conjugués C1 à Cn, chaque conjugué étant composé (i) d'un polyside S1 à Sn respectivement et, (ii) d'une protéine porteuse P1 à Pn respectivement, "n" étant un nombre égal ou supérieur à 2 ; composition dans laquelle les polysides S1 à Sn sont identiques ou différents et dans laquelle les protéines porteuses P1 à Pn sont sélectionnées de manière indépendante parmi un groupe constitué des anatoxines diphtérique (Dt) et tétanique (Tt), à condition qu'au moins une des protéines porteuses P1 à Pn soit différente des autres ; et qui est caractérisée en ce que la quantité en Dt et Tt est respectivement inférieure ou égale à 200 et 50 µg / dose.

17. Une composition selon la revendication 16, dans laquelle les conjugués C1 à Cn sont tous différents entre eux soit par leur polyside, soit par leur protéine porteuse ou par leur polyside et leur protéine porteuse.

18. Une composition selon la revendication 17, dans laquelle les polysides S1 à Sn sont tous différents entre eux.

19. Une composition selon la revendication 16, 17 ou 18, dans laquelle "n" est un nombre égal ou supérieur à 6.
20. Une composition selon la revendication 19, dans laquelle "n" est un nombre égal ou supérieur à 10.
21. Une composition selon l'une des revendications 16 à 20, dans laquelle les polyosides S1 à Sn sont d'origine bactérienne.
22. Une composition selon la revendication 21, dans laquelle les polyosides S1 à Sn sont tous dérivés de la même espèce bactérienne.
23. Une composition selon la revendication 22, dans laquelle les polyosides S1 à Sn sont tous dérivés de l'espèce *Streptococcus pneumoniae*.

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 6 A61K39/09 A61K39/385

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>C. CHU ET AL.: "FURTHER STUDIES ON THE IMMUNOGENICITY OF HAEMOPHILUS INFLUENZAE TYPE B AND PNEUMOCOCCAL TYPE 6A POLYSACCHARIDE-PROTEIN CONJUGATES." INFECTION AND IMMUNITY, vol. 40, no. 1, April 1983, pages 245-256, XP002056604 WASHINGTON US</p> <p>see page 253, left-hand column, line 14 - line 22; tables 2,3</p> <p>see page 248, right-hand column, line 3 - page 250, left-hand column, paragraph 3</p> <p>---</p> <p>-/-</p>	1-23

☒ Further documents are listed in the continuation of box C

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

21 September 1998

Date of mailing of the international search report

08/10/1998

Name and mailing address of the ISA
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Ryckebosch, A

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No
O,A	D.P. GREENBERG ET AL.: "FACTORS INFLUENCING THE IMMUNOGENICITY OF A PNEUMOCOCCAL CONJUGATE VACCINE IN INFANTS" PEDIATRIC RESEARCH, vol. 41, 2 - 6 May 1997, page 121A XP002078190 BASEL, CH see abstract no 709 ---	1-23
A	WO 88 00056 A (THE STATE OF VICTORIA) 14 January 1988 see page 5, line 14 - line 22; claims 1-3,10 see page 6, line 9 - line 21 ---	1-23
A	G.R. SIBER: "PNEUMOCOCCAL DISEASE: PROSPECTS FOR A NEW GENERATION OF VACCINES." SCIENCE, vol. 265, 2 September 1994, pages 1385-1387, XP000461837 WASHINGTON, DC, US see the whole document ---	1-23
A	EP 0 497 525 A (MERCK & CO. INC.) 5 August 1992 see claims ---	1-23
A	C.C.A.M. PEETERS ET AL.: "EFFECT OF CARRIER PRIMING ON IMMUNOGENICITY OF SACCHARIDE-PROTEIN CONJUGATE VACCINES." INFECTION AND IMMUNITY, vol. 59, no. 10, October 1991, pages 3504-3510, XP000371706 WASHINGTON US see the whole document ---	1-23
P,A	R. DAGAN ET AL.: "REDUCED RESPONSE TO MULTIPLE VACCINES SHARING COMMON PROTEIN EPITOPES THAT ARE ADMINISTERED SIMULTANEOUSLY TO INFANTS." INFECTION AND IMMUNITY, vol. 66, no. 5, May 1998, pages 2093-2098, XP002078187 WASHINGTON US see section "discussion" -----	1-23

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)		Publication date
WO 8800056	A	14-01-1988		AU 7642387	A	29-01-1988
				DK 114588	A	03-05-1988
				EP 0274496	A	20-07-1988
				FI 880954	A	02-03-1988
				JP 1500900	T	30-03-1989

EP 497525	A	05-08-1992		AT 169825	T	15-09-1998
				AU 651656	B	28-07-1994
				AU 1046792	A	30-07-1992
				CN 1064217	A	09-09-1992
				CS 9200199	A	14-10-1992
				FI 920353	A	29-07-1992
				HU 69968	A	28-09-1995
				JP 2069074	C	10-07-1996
				JP 5065300	A	19-03-1993
				JP 7094472	B	11-10-1995
				MX 9200328	A	01-09-1992
				NZ 241367	A	27-04-1994
				SG 48106	A	17-04-1998
				SI 9210081	A	29-02-1996
				US 5623057	A	22-04-1997

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 6 A61K39/09 A61K39/385

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)
CIB 6 A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	<p>C. CHU ET AL.: "FURTHER STUDIES ON THE IMMUNOGENICITY OF HAEMOPHILUS INFLUENZAE TYPE B AND PNEUMOCOCCAL TYPE 6A POLYSACCHARIDE-PROTEIN CONJUGATES." INFECTION AND IMMUNITY, vol. 40, no. 1, avril 1983, pages 245-256, XP002056604 WASHINGTON US</p> <p>voir page 253, colonne de gauche, ligne 14 - ligne 22; tableaux 2,3 voir page 248, colonne de droite, ligne 3 - page 250, colonne de gauche, alinéa 3</p> <p>---</p> <p>-/--</p>	1-23

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- "X" document particulièrement pertinent: l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- "Y" document particulièrement pertinent: l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- "Z" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

21 septembre 1998

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

08/10/1998

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5018 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel: (+31-70) 340-2040, Tx: 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Ryckebosch, A

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no des revendications visées
O,A	D.P. GREENBERG ET AL.: "FACTORS INFLUENCING THE IMMUNOGENICITY OF A PNEUMOCOCCAL CONJUGATE VACCINE IN INFANTS" PEDIATRIC RESEARCH, vol. 41, 2 - 6 mai 1997, page 121A XP002078190 BASEL, CH voir résumé no. 709 ---	1-23
A	WO 88 00056 A (THE STATE OF VICTORIA) 14 janvier 1988 voir page 5, ligne 14 - ligne 22; revendications 1-3,10 voir page 6, ligne 9 - ligne 21 ---	1-23
A	G.R. SIBER: "PNEUMOCOCCAL DISEASE: PROSPECTS FOR A NEW GENERATION OF VACCINES." SCIENCE, vol. 265, 2 septembre 1994, pages 1385-1387, XP000461837 WASHINGTON, DC, US voir le document en entier ---	1-23
A	EP 0 497 525 A (MERCK & CO. INC.) 5 août 1992 voir revendications ---	1-23
A	C.C.A.M. PEETERS ET AL.: "EFFECT OF CARRIER PRIMING ON IMMUNOGENICITY OF SACCHARIDE-PROTEIN CONJUGATE VACCINES." INFECTION AND IMMUNITY, vol. 59, no. 10, octobre 1991, pages 3504-3510, XP000371706 WASHINGTON US voir le document en entier ---	1-23
P,A	R. DAGAN ET AL.: "REDUCED RESPONSE TO MULTIPLE VACCINES SHARING COMMON PROTEIN EPITOPES THAT ARE ADMINISTERED SIMULTANEOUSLY TO INFANTS." INFECTION AND IMMUNITY, vol. 66, no. 5, mai 1998, pages 2093-2098, XP002078187 WASHINGTON US voir section "discussion" -----	1-23

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevets)	Date de publication
WO 8800056	A	14-01-1988	AU 7642387 A	29-01-1988
			DK 114588 A	03-05-1988
			EP 0274496 A	20-07-1988
			FI 880954 A	02-03-1988
			JP 1500900 T	30-03-1989

EP 497525	A	05-08-1992	AT 169825 T	15-09-1998
			AU 651656 B	28-07-1994
			AU 1046792 A	30-07-1992
			CN 1064217 A	09-09-1992
			CS 9200199 A	14-10-1992
			FI 920353 A	29-07-1992
			HU 69968 A	28-09-1995
			JP 2069074 C	10-07-1996
			JP 5065300 A	19-03-1993
			JP 7094472 B	11-10-1995
			MX 9200328 A	01-09-1992
			NZ 241367 A	27-04-1994
			SG 48106 A	17-04-1998
			SI 9210081 A	29-02-1996
			US 5623057 A	22-04-1997